



日本国特許庁
JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日 2003年 3月13日
Date of Application:

出願番号 特願2003-067983
Application Number:

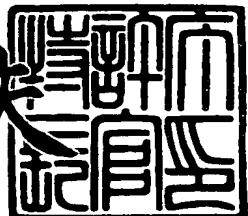
[ST. 10/C] : [JP2003-067983]

出願人 オリンパス株式会社
Applicant(s):

2004年 2月10日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

今井康夫



【書類名】 特許願
【整理番号】 02P02052
【提出日】 平成15年 3月13日
【あて先】 特許庁長官 殿
【国際特許分類】 G02B 21/00
【発明の名称】 走査型レーザ顕微鏡
【請求項の数】 12
【発明者】
【住所又は居所】 東京都渋谷区幡ヶ谷2丁目43番2号 オリンパス光学
工業株式会社内
【氏名】 佐々木 浩
【特許出願人】
【識別番号】 000000376
【氏名又は名称】 オリンパス光学工業株式会社
【代理人】
【識別番号】 100058479
【弁理士】
【氏名又は名称】 鈴江 武彦
【電話番号】 03-3502-3181
【選任した代理人】
【識別番号】 100091351
【弁理士】
【氏名又は名称】 河野 哲
【選任した代理人】
【識別番号】 100084618
【弁理士】
【氏名又は名称】 村松 貞男

【選任した代理人】

【識別番号】 100100952

【弁理士】

【氏名又は名称】 風間 鉄也

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 011567

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 0010297

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 走査型レーザ顕微鏡

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 レーザビームを出力するレーザ光源と、前記レーザビームを試料に照射したときに前記試料から発する光と前記レーザビームとを分離する切換可能な複数のビームスプリッタと、このビームスプリッタにより分離された前記試料で発する光を分散させて、結像させる分散素子及び結像手段と、この分散素子及び結像手段により形成されるスペクトル列結像位置近傍に配置され、このスペクトル列結像から少なくとも1つの波長領域の光を取り出す波長領域取り出し手段と、この波長領域取り出し手段により取り出された前記波長領域の光を検出する光検出器とを有する走査型レーザ顕微鏡において、

前記ビームスプリッタの切り換えによって前記分散方向にずれる前記スペクトル列結像位置と前記波長領域取り出し手段との位置関係を補正する補正手段、を具備したことを特徴とする走査型レーザ顕微鏡。

【請求項 2】 レーザビームを出力するレーザ光源と、前記レーザビームを試料に照射したときに前記試料から発する光と前記レーザビームとを分離する切換可能な複数の第1のビームスプリッタと、この第1のビームスプリッタにより分離された前記試料で発する前記光を複数の波長領域別の光に分割する第2のビームスプリッタと、この第2のビームスプリッタにより分割された前記複数の波長帯域毎の各光路上にそれぞれ設けられ、前記第2のビームスプリッタにより分離された前記試料で発する前記各光をそれぞれ分散させて結像させる複数の分散素子及び結像手段と、これら分散素子及び結像手段により結像される各スペクトル列結像位置近傍に配置され、これらのスペクトル列から少なくとも1つの波長領域の各光を取り出す複数の波長領域取り出し手段と、これら波長領域取り出し手段により取り出された前記各波長領域の前記各光をそれぞれ検出する複数の光検出器とを有する走査型レーザ顕微鏡において、

前記第1又は前記第2のビームスプリッタのうちいずれか一方又は両方の切り換えによって前記分散方向にずれる前記スペクトル列結像位置と当該ずれるスペクトル列結像位置に対応する前記波長領域取り出し手段との位置関係を補正する

補正手段、
を具備したことを特徴とする走査型レーザ顕微鏡。

【請求項3】 レーザビームを出力するレーザ光源と、前記レーザビームを試料に照射したときに前記試料から発する光をスペクトル列に分散させて、結像させる分散素子及び結像手段と、これら分散素子及び結像手段により形成されるスペクトル列結像位置近傍に配置され、このスペクトル列から少なくとも1つの波長領域の光を取り出す波長領域取り出し手段と、この波長領域取り出し手段により取り出された前記波長領域の前記光を検出する複数の光検出器とを有する走査型レーザ顕微鏡において、

前記分散素子に入射する光の角度が変化する光学素子の切り換えによって前記分散方向にずれる前記スペクトル列結像位置と前記波長領域取り出し手段との位置関係を補正する補正手段、

を具備したことを特徴とする走査型レーザ顕微鏡。

【請求項4】 前記補正手段は、複数の前記ビームスプリッタ毎に対する前記スペクトル列結像位置の前記各ずれに対応する複数の補正量を予め記憶し、

前記ビームスプリッタを切り換えると、このビームスプリッタに対する前記補正量に従って前記スペクトル列結像位置と前記波長領域取り出し手段との位置関係を補正することを特徴とする請求項1又は2記載の走査型レーザ顕微鏡。

【請求項5】 前記波長領域取り出し手段は、前記スペクトル列方向と同一方向に移動可能な可変スリットであり、

前記補正手段は、複数の前記ビームスプリッタ毎に対する前記スペクトル列結像位置の前記各ずれに対応する前記補正量に従って前記可変スリットを前記スペクトル列方向に移動させることを特徴とする請求項1、2又は4のうちいずれか1項記載の走査型レーザ顕微鏡。

【請求項6】 前記可変スリットは、前記スペクトル列方向と同一方向に移動可能で、かつスリット幅を可変とすることを特徴とする請求項5項記載の走査型レーザ顕微鏡。

【請求項7】 前記補正手段は、前記ビームスプリッタを切り換えると、このビームスプリッタに対する前記補正量に従って前記分散素子を回転制御し、前

記波長領域取り出し手段に対して前記スペクトル列結像位置を前記スペクトル列方向に変位させることを特徴とする請求項 1、2 又は 4 のうちいずれか 1 項記載の走査型レーザ顕微鏡。

【請求項 8】 前記レーザ光源から出力された前記レーザビームを走査して前記試料上に照射する走査手段を有し、

前記走査手段による前記試料上に対する前記レーザビームの走査動作と、前記分散素子の回転動作とを同期させる同期制御手段を有することを特徴とする請求項 7 記載の走査型レーザ顕微鏡。

【請求項 9】 レーザビームを出力するレーザ光源と、前記レーザビームを試料に照射したときに前記試料から発する光と前記レーザビームとを分離する切換可能な複数のビームスプリッタと、このビームスプリッタにより分離された前記試料で発する光をスペクトル列に分散させて、結像させる分散素子及び結像手段と、これら分散素子及び結像手段により形成されるスペクトル列結像位置近傍に配置され、このスペクトル列から少なくとも 1 つの波長領域の光を取り出す波長領域取り出し手段と、この波長領域取り出し手段により取り出された前記波長領域の光を検出する複数の検出部を前記スペクトル方向に配列してなる光検出器とを有する走査型レーザ顕微鏡において、

前記ビームスプリッタの切り換えによって前記分散方向にずれる前記スペクトル列結像位置に対して前記光検出器において光検出値を読み出す前記複数の検出部の位置を補正する補正手段、

を具備したことを特徴とする走査型レーザ顕微鏡。

【請求項 10】 レーザビームを出力するレーザ光源と、前記レーザビームを試料に照射したときに前記試料から発する光と前記レーザビームとを分離する切換可能な複数の第 1 のビームスプリッタと、この第 1 のビームスプリッタにより分離された前記試料で発する前記光を複数の波長領域別の光に分割する第 2 のビームスプリッタと、この第 2 のビームスプリッタにより分割された前記複数の波長帯域毎の各光路上にそれぞれ設けられ、前記第 2 のビームスプリッタにより分離された前記試料で発する前記各光をそれぞれ分散させて結像させる複数の分散素子及び結像手段と、これら分散素子及び結像手段により結像された各スペク

トル列結像位置からそれぞれ少なくとも 1 つの波長領域の各光を取り出す複数の波長領域取り出し手段と、これら波長領域取り出し手段により取り出された前記各波長領域の前記各光をそれぞれ検出する複数の検出部を前記スペクトル方向に配列してなる複数の光検出器とを有する走査型レーザ顕微鏡において、

前記第 1 又は前記第 2 のビームスプリッタのうちいずれか一方又は両方の切り換えによって前記分散方向にずれる前記スペクトル列結像位置に対して前記複数の光検出器において光検出値を読み出す前記検出部の位置を補正する補正手段、を具備したことを特徴とする走査型レーザ顕微鏡。

【請求項 1 1】 レーザビームを出力するレーザ光源と、前記レーザビームを試料に照射したときに前記試料から発する光をスペクトル列に分散させて、結像させる分散素子及び結像手段と、これら分散素子及び結像手段により結像されたスペクトル列結像位置から少なくとも 1 つの波長領域の光を取り出す波長領域取り出し手段と、この波長領域取り出し手段により取り出された前記波長領域の前記光を検出する複数の検出部を前記スペクトル方向に配列してなる光検出器とを有する走査型レーザ顕微鏡において、

前記分散素子に入射する光の角度が変化する光学素子の切り換えによって前記分散方向にずれる前記スペクトル列結像位置と前記光検出器から光検出値を読み出す前記検出部の位置との位置関係を補正する補正手段、を具備したことを特徴とする走査型レーザ顕微鏡。

【請求項 1 2】 前記補正手段は、複数の前記ビームスプリッタ毎に対する前記スペクトル列結像位置の前記各ずれに対応する複数の補正量を予め記憶し、前記ビームスプリッタを切り換えると、このビームスプリッタに対する前記補正量に従って前記光検出器から光検出値を読み出す前記検出部の位置との位置関係を補正することを特徴とする請求項 9 又は 10 記載の走査型レーザ顕微鏡。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、例えば、レーザビーム（照明光）を対物レンズを通して集光してそのスポット光を試料上に照射し、試料からの光（蛍光）をスペクトル分解してそ

のスペクトル列から任意の波長領域の蛍光を検出したり、分光データを取得する走査型レーザ顕微鏡に関する。

【0002】

【従来の技術】

走査型レーザ顕微鏡は、蛍光試薬に染色された試料に対してレーザビームを照射して蛍光試薬を励起し、試料から発せられる蛍光をスペクトル分解し、このスペクトル列から任意の波長領域の蛍光を検出したり、スペクトル列から蛍光の分光データを取得することができる。このような走査型レーザ顕微鏡は、例えば特許文献1、2に記載されている。

【0003】

特許文献1は、試料からの蛍光をプリズムにより分散し、この分散された蛍光をフォーカシング光学系により集光して分割／検知装置に入射する。この分割／検知装置は、スリット絞りを形成する反射面によってフォーカシング光学系により集光された蛍光を各スペクトル領域に対応する複数の部分ビームにし、これら部分ビームを各検知器に結像する。この分割／検知装置は、スリット絞りを形成する反射面を駆動制御することにより各検知器に割り当てる波長領域を可変できる。

【0004】

特許文献2は、回折格子と凹面ミラーとの組み合わせ、又はプリズムと集光レンズとの組み合わせにより試料からの蛍光をスペクトル列状に結像し、この結像位置に配置した微小鏡配列（以下、DMDと称する）によって光検出器に入射する波長領域を選択する。DMDは、アレイ状の複数の微小ミラーの集合からなる。このDMDは、各微小ミラーを電気的に反射面角度を切り替え可能、つまり反射方向を2方向に切り替え可能な構成である。

【0005】

従って、特許文献2は、DMDの2つの反射方向の少なくとも一方に光検出器を配置し、微小ミラー上に結像されたスペクトル列の中から任意の波長領域の光を光検出器に導くことができる。又、特許文献2は、微小ミラーを順次切り換えることにより、蛍光の分光特性を検知可能である。

【0006】**【特許文献1】**

特表2002-502044号公報

【0007】**【特許文献2】**

特開2000-56244号公報

【0008】**【発明が解決しようとする課題】**

走査型レーザ顕微鏡は、励起光であるレーザビームと試料からの蛍光とを分離するためにビームスプリッタを用いる。走査型レーザ顕微鏡では、観察に使用するレーザ波長及び蛍光の波長特性に合わせて複数種類のビームスプリッタを用意する。これらビームスプリッタは、試料の観察に応じていずれか1つを光路上に切り換える。

【0009】

例えば、波長488nmのArレーザビームで試料の蛍光試薬を励起し、波長500nm～600nmの蛍光を取得する場合は、波長488nmの光を反射し、波長500nm～600nmの波長領域を透過する特性を有するダイクロイックビームスプリッタを用いる。

【0010】

又、波長515nmのArレーザビームで試料の蛍光試薬を励起し、波長530nm～650nmの蛍光を取得する場合は、波長515nmの光を反射し、波長530nm～650nmの波長領域を透過する特性を有するダイクロイックビームスプリッタを用いる。

【0011】

これらビームスプリッタは、例えば円板状に形成されたターレットに設けられ、このターレットの回転による切換動作によっていずれか1つが光軸上に配置される。

【0012】

ターレットは、回転軸受け部の振れや複数のビームスプリッタを設ける表面の

平面度などに製造誤差を有する。このため、ターレットを回転してビームスプリッタを切り換えたとき、各ビームスプリッタの光軸に対する反射面の角度は、各ビームスプリッタ毎にそれぞれ異なる。なお、これら角度は、各ビームスプリッタ間の角度差と称する。

【0013】

このビームスプリッタ間の角度差があるために、ビームスプリッタを切り換えたとき、試料からの光がビームスプリッタを通過して例えばプリズムなどの分散素子に入射する光の角度が変化する。この結果、分散素子により分散され、集光レンズにより集光されて得られるスペクトル列結像位置がスペクトル列方向にずれる。

【0014】

このスペクトル例結像位置のずれについて図6を参照して説明する。プリズム1は、平行光の入射光2を分散する。この分散されたに入射光2は、集光レンズ3により集光される。これにより、集光レンズ3により形成される結像面4には、スペクトル列が結像される。

【0015】

この結像面4上に可変スリット5が配置される。この可変スリット5は、スペクトル列方向と同一方向にスリット幅を可変可能とし、かつスリット中心位置をスペクトル列方向と同一方向に移動可能とする。

【0016】

可変スリット5の幅を変更することで光検出器6に取り込む波長幅を変更し、可変スリット5のスリット中心を移動させることで、光検出器6に取り込む波長領域の波長中心を変更する。可変スリット5を通過した波長領域の光のみが光検出器6により検出される。

【0017】

ここで、プリズム1は、例えば硝材をP B H 8とし、形状を正三角形とする。入射光2は、ビームスプリッタを通ってプリズム1に入射する。

【0018】

入射光2aは、例えば波長510nm（屈折率1.730774）で、プリズ

ム 1 の入射面の法線 a_1 に対して 60° の角度で入射する。プリズム 1 からの出射光 7 a の出射角度は、出射面の法線 a_2 に対して 59.85° になる。

【0019】

入射光 2 b は、別のビームスプリッタに切り換えた場合である。この入射光 2 b は、入射光 2 a の光軸に対して例えば角度 $6'$ ずれる。このためプリズム 1 からの出射光 7 b の出射角度は、出射面の法線 a_2 に対して 59.75° になる。

【0020】

スペクトル列結像位置は、集光レンズ 3 に入射する光が平行光であれば、出射する光の角度のみに依存する。結像面 4 上において、波長 510 nm の入射光 2 a を入射したときのスペクトル列結像位置と、入射角度の異なる同波長の入射光 2 b を入射したときのスペクトル列結像位置とは、それぞれ異なった結像位置になる。

【0021】

これらスペクトル列結像位置のずれ量 ΔL は、例えば、集光レンズ 3 の焦点距離を 30 mm としたとき、

$$\begin{aligned}\Delta L &= (\tan 59.85^\circ - \tan 59.75^\circ) \times 30 \\ &= 0.207\text{ mm} \quad \cdots (1)\end{aligned}$$

になる。

【0022】

逆に入射光 2 b での角度で入射した光でビームスプリッタを切り換える前の出射光 7 a (出射面の法線 a_2 に対して 59.85° で出射) の角度で出射する光の波長は、 505 nm (屈折率 1.731626) になる。

【0023】

このため、可変スリット 5 のスリット中心位置を波長 510 nm に設定した状態で別のビームスプリッタを切り換えると、可変スリット 5 のスリット中心位置における波長は 505 nm になる。この結果、可変スリット 5 を通して光検出器 6 により検出される光の波長は、 510 nm から 505 nm へと 5 nm ずれてしまう。

【0024】

試料から発せられる蛍光をスペクトル分解し、このスペクトル列から蛍光の分光データを取得するには、可変スリット5のスリット幅を狭く設定して取り出す波長領域の幅を小さくし、スペクトル列方向に可変スリット5を移動させながらスペクトル列方向の光強度の変化を検出する。このため、僅かなスペクトル列結像位置のずれでも分光データの取得に影響を与える。スペクトル列結像位置のずれは、分光データを取得するのに深刻な問題である。

【0025】

そこで本発明は、スペクトル列に分散する分散素子への入射光の入射角度が変化しても正確に波長領域毎の測定ができる走査型レーザ顕微鏡を提供することを目的とする。

【0026】

【課題を解決するための手段】

本発明は、レーザビームを出力するレーザ光源と、レーザビームを試料に照射したときに試料から発する光とレーザビームとを分離する切換可能な複数のビームスプリッタと、このビームスプリッタにより分離された試料で発する光を分散させて、結像させる分散素子及び結像手段と、この分散素子及び結像手段により形成されるスペクトル列結像位置近傍に配置され、このスペクトル列結像から少なくとも1つの波長領域の光を取り出す波長領域取り出し手段と、この波長領域取り出し手段により取り出された波長領域の光を検出する光検出器とを有する走査型レーザ顕微鏡において、ビームスプリッタの切り換えによって分散方向にずれるスペクトル列結像位置と波長領域取り出し手段との位置関係を補正する補正手段を具備した走査型レーザ顕微鏡である。

【0027】

本発明は、レーザビームを出力するレーザ光源と、レーザビームを試料に照射したときに試料から発する光とレーザビームとを分離する切換可能な複数の第1のビームスプリッタと、この第1のビームスプリッタにより分離された試料で発する光を複数の波長領域別の光に分割する第2のビームスプリッタと、この第2のビームスプリッタにより分割された複数の波長帯域毎の各光路上にそれぞれ設けられ、第2のビームスプリッタにより分離された試料で発する各光をそれぞれ

分散させて結像させる複数の分散素子及び結像手段と、これら分散素子及び結像手段により結像される各スペクトル列結像位置近傍に配置され、これらのスペクトル列から少なくとも1つの波長領域の各光を取り出す複数の波長領域取り出し手段と、これら波長領域取り出し手段により取り出された各波長領域の各光をそれぞれ検出する複数の光検出器とを有する走査型レーザ顕微鏡において、第1又は第2のビームスプリッタのうちいずれか一方又は両方の切り換えによって分散方向にずれるスペクトル列結像位置と当該ずれるスペクトル列結像位置に対応する波長領域取り出し手段との位置関係を補正する補正手段を具備した走査型レーザ顕微鏡である。

【0028】

本発明は、レーザビームを出力するレーザ光源と、レーザビームを試料に照射したときに試料から発する光をスペクトル列に分散させて、結像させる分散素子及び結像手段と、これら分散素子及び結像手段により形成されるスペクトル列結像位置近傍に配置され、このスペクトル列から少なくとも1つの波長領域の光を取り出す波長領域取り出し手段と、この波長領域取り出し手段により取り出された波長領域の光を検出する複数の光検出器とを有する走査型レーザ顕微鏡において、分散素子に入射する光の角度が変化する光学素子の切り換えによって分散方向にずれるスペクトル列結像位置と波長領域取り出し手段との位置関係を補正する補正手段を具備した走査型レーザ顕微鏡である。

【0029】

本発明の走査型レーザ顕微鏡における補正手段は、複数のビームスプリッタ毎に対するスペクトル列結像位置の各ずれに対応する複数の補正量を予め記憶し、ビームスプリッタを切り換えると、このビームスプリッタに対する補正量に従ってスペクトル列結像位置と波長領域取り出し手段との位置関係を補正することが好ましい。

【0030】

本発明の走査型レーザ顕微鏡における波長領域取り出し手段は、スペクトル列方向と同一方向に移動可能な可変スリットであり、補正手段は、複数のビームスプリッタ毎に対するスペクトル列結像位置の各ずれに対応する補正量に従って可

変スリットをスペクトル列方向に移動させる。

【0031】

本発明の走査型レーザ顕微鏡における可変スリットは、スペクトル列方向と同一方向に移動可能で、かつスリット幅を可変とすることが好ましい。

【0032】

本発明の走査型レーザ顕微鏡における補正手段は、ビームスプリッタを切り換えると、このビームスプリッタに対する補正量に従って分散素子を回転制御し、波長領域取り出し手段に対してスペクトル列結像位置をスペクトル列方向に変位させることが好ましい。

【0033】

本発明の走査型レーザ顕微鏡において、レーザ光源から出力されたレーザビームを走査して試料上に照射する走査手段を有し、走査手段による試料上に対するレーザビームの走査動作と、分散素子の回転動作とを同期させる同期制御手段を有することが好ましい。

【0034】

本発明は、レーザビームを出力するレーザ光源と、レーザビームを試料に照射したときに試料から発する光とレーザビームとを分離する切換可能な複数のビームスプリッタと、このビームスプリッタにより分離された試料で発する光をスペクトル列に分散させて、結像させる分散素子及び結像手段と、これら分散素子及び結像手段により形成されるスペクトル列結像位置近傍に配置され、このスペクトル列から少なくとも1つの波長領域の光を取り出す波長領域取り出し手段と、この波長領域取り出し手段により取り出された波長領域の光を検出する複数の検出部をスペクトル方向に配列してなる光検出器とを有する走査型レーザ顕微鏡において、ビームスプリッタの切り換えによって分散方向にずれるスペクトル列結像位置に対して光検出器において光検出値を読み出す複数の検出部の位置を補正する補正手段を具備した走査型レーザ顕微鏡である。

【0035】

本発明は、レーザビームを出力するレーザ光源と、レーザビームを試料に照射したときに試料から発する光とレーザビームとを分離する切換可能な複数の第1

のビームスプリッタと、この第1のビームスプリッタにより分離された試料で発する光を複数の波長領域別の光に分割する第2のビームスプリッタと、この第2のビームスプリッタにより分割された複数の波長帯域毎の各光路上にそれぞれ設けられ、第2のビームスプリッタにより分離された試料で発する各光をそれぞれ分散させて結像させる複数の分散素子及び結像手段と、これら分散素子及び結像手段により結像された各スペクトル列結像位置からそれぞれ少なくとも1つの波長領域の各光を取り出す複数の波長領域取り出し手段と、これら波長領域取り出し手段により取り出された各波長領域の各光をそれぞれ検出する複数の検出部をスペクトル方向に配列してなる複数の光検出器とを有する走査型レーザ顕微鏡において、第1又は第2のビームスプリッタのうちいずれか一方又は両方の切り換えによって分散方向にずれるスペクトル列結像位置に対して複数の光検出器において光検出値を読み出す検出部の位置を補正する補正手段を具備した走査型レーザ顕微鏡である。

【0036】

本発明は、レーザビームを出力するレーザ光源と、レーザビームを試料に照射したときに試料から発する光をスペクトル列に分散させて、結像させる分散素子及び結像手段と、これら分散素子及び結像手段により結像されたスペクトル列結像位置から少なくとも1つの波長領域の光を取り出す波長領域取り出し手段と、この波長領域取り出し手段により取り出された波長領域の光を検出する複数の検出部をスペクトル方向に配列してなる光検出器とを有する走査型レーザ顕微鏡において、分散素子に入射する光の角度が変化する光学素子の切り換えによって分散方向にずれるスペクトル列結像位置に対して光検出器において光検出値を読み出す検出部の位置を補正する補正手段を具備した走査型レーザ顕微鏡である。

【0037】

本発明の走査型レーザ顕微鏡における補正手段は、複数のビームスプリッタ毎に対するスペクトル列結像位置の各ずれに対応する複数の補正量を予め記憶し、ビームスプリッタを切り換えると、このビームスプリッタに対する補正量に従つて光検出器から光検出値を読み出す検出部の位置との位置関係を補正することが好ましい。

【0038】**【発明の実施の形態】**

以下、本発明の第1の実施の形態について図面を参照して説明する。

【0039】

図1は走査型レーザ顕微鏡の構成図である。アルゴンレーザ10は、波長488 nmと514.5 nmとのレーザビームを出力する。ヘリウムネオンレーザ11は、波長543 nmのレーザビームを出力する。

【0040】

ヘリウムネオンレーザ11から出力されるレーザビームの光路上にミラー12が設けられている。アルゴンレーザ10から出力されるレーザビームの光路とミラー12の反射光路との交点に合成ダイクロイックミラー13が設けられている。この合成ダイクロイックミラー13は、アルゴンレーザ10から出力されたレーザビームとヘリウムネオンレーザ11から出力されたレーザビームとを1つの光路上に合成する。

【0041】

この合成ダイクロイックミラー13により合成されて出射されたレーザビーム光路上に音響光学チューナブルフィルタ（以下、AOTFと称する）14と、ビームエキスパンダ15とが設けられている。AOTF14は、波長488 nmと、514.5 nmと、543 nmとのレーザビームの波長選択及びこれら波長別にレーザビームの強度強調を独立に行う。ビームエキスパンダ15は、レーザビームのビーム径を適切な径に拡大する。

【0042】

ビームスプリッタターレット16がビームエキスパンダ15を通過したレーザビームの光路上に設けられている。このビームスプリッタターレット16は、図1に付記した正面図に示すように円板状に形成され、この円板上の同一円周上に複数の取付孔、例えば3つの取付孔が等間隔に設けられている。

【0043】

これら取付孔には、それぞれ複数の励起ダイクロイックミラー（ビームスプリッタ）、例えば3つの励起ダイクロイックミラー17a～17cが取り付けられ

ている。これら励起ダイクロイックミラー17a～17cは、ビームエキスパンダ15からのレーザビームを試料9の方向に反射し、かつ試料9からの蛍光を透過する。

【0044】

励起ダイクロイックミラー17aは、波長488nmのレーザ波長を励起光として用いて試料9からの蛍光を観察するときに用いる。この励起ダイクロイックミラー17aは、波長488nmの光を反射し、波長500～620nmの光を透過する特性を有する。

【0045】

励起ダイクロイックミラー17bは、波長514.5nmのレーザ波長を励起光として用いて試料9からの蛍光を観察するときに用いる。この励起ダイクロイックミラー17bは、波長514.5nmの光を反射し、波長525～620nmの光を透過する特性を有する。

【0046】

励起ダイクロイックミラー17cは、波長543nmのレーザ波長を励起光として用いて試料9からの蛍光を観察するときに用いる。この励起ダイクロイックミラー17cは、波長543nmの光を反射し、波長555～620nmの光を透過する特性を有する。

【0047】

ビームスプリッタターレット16は、ビームエキスパンダ15を通過したレーザビームの光軸に対して略45°傾斜して設けられている。このビームスプリッタターレット16の中心にモータ18の回転軸が設けられている。ビームスプリッタターレット16は、モータ18の回転動作によって回転軸18aを中心に回転し、各励起ダイクロイックミラー17a～17cのうち試料9の観察に応じた1つの励起ダイクロイックミラー17a、17b又は17cをレーザビーム及び蛍光の光路上に切り換える。

【0048】

ガルバノミラースキヤナ19は、励起ダイクロイックミラー17a、17b又は17cの反射光路上に設けられ、励起ダイクロイックミラー17a、17b又

は 17c を透過したレーザビームを異なる方向すなわち X 方向と Y 方向とにそれぞれ偏向することによりレーザビームを試料 9 上に 2 次元に走査する。

【0049】

なお、ガルバノミラースキャナ 19 の走査出力の光路上には、図示しないが集光レンズなどが設けられている。この集光レンズは、レーザビームを集光して試料 9 の表面上にスポット光を形成する。

【0050】

一方、励起ダイクロイックミラー 17a、17b 又は 17c の透過光路上に反射ミラー 20 が設けられている。この反射ミラー 20 の反射光路上に共焦点レンズ 21、共焦点ピンホール 22、コリメートレンズ 23 を介して回折格子（分散素子） 24 が設けられている。

【0051】

この回折格子 24 は、コリメートレンズ 23 を通過して入射する蛍光を波長分散する。この回折格子 24 は、例えば波長 500 nm の蛍光を反射光線 25a の方向に反射し、波長 600 nm の蛍光を反射光線 25b の方向に反射する。これら波長 500 nm と 600 nm との各蛍光は、波長に応じて反射光線 25a と反射光線 25b との間の角度で反射する。

【0052】

回折格子 24 の反射光路上には、集光レンズ 26、可変スリットユニット 27 を介して光検出器 28 が設けられている。可変スリットユニット 27 は、スリット幅 ΔM を可変可能とする可変スリット（波長領域取り出し手段） 29 を有する。

【0053】

この可変スリット 29 は、図 2 に示すようにスリット幅可変部 30 上における集光レンズ 26 の結像位置に設けられている。この可変スリット 27 は、スリット幅 ΔM の方向をスペクトルの分散方向に一致する方向に設けられている。

【0054】

スリット幅可変部 30 は、可変スリット 29 のスリット幅 ΔM を可変制御する電動駆動部を有する。これにより、スリット幅可変部 30 は、可変スリット 29

のスリット幅△Mを可変制御することにより、スペクトル列から取り出して光検出器28に入射する蛍光の波長幅を制御する。

【0055】

このスリット幅可変部30は、電動ステージ31上に設けられている。この電動ステージ31は、回折格子24による蛍光の分散により形成されるスペクトル列方向と同一方向（矢印S方向）にスリット幅可変部30を移動可能にする。

【0056】

可変スリットユニット27は、電動ステージ31の駆動によりスリット幅可変部30を矢印S方向に移動し、これにより可変スリット29をスペクトル列方向と同一方向に移動する。これによって光検出器28により検出される蛍光の波長中心が制御される。

【0057】

光検出器28は、入射する蛍光の光強度を検出し、この光強度に応じた検出信号を出力する。

【0058】

制御装置32は、ビームスプリッタターゲット7のモータ18を回転制御し、各励起ダイクロイックミラー17a～17cのうち1つの励起ダイクロイックミラー17a、17b又は17cをレーザビーム及び蛍光の光路上に切り換え制御する。

【0059】

なお、制御装置32の切り換え制御により、例えば励起ダイクロイックミラー17aを17bに切り換えると、これら励起ダイクロイックミラー17aと17bとの間の角度差により、これら励起ダイクロイックミラー17aと17bとの反射面の各角度がずれる。

【0060】

例えば、励起ダイクロイックミラー17aから17bに切り換えたときに回折格子24での分散方向に、例えば角度1.5'ずれると、励起ダイクロイックミラー17bを透過する光の角度は、励起ダイクロイックミラー17aを光が透過するときに比べて2倍の3'ずれる。

【0061】

又、共焦点レンズ21の焦点距離を160mmとし、コリメートレンズ23の焦点距離を80mmにすると、励起ダイクロイックミラー17aを使用していたときと比べてコリメートレンズ23の出射角度差は、2倍の6' (0.1°) になる。この結果、回折格子24に入射する光の角度 α は、10.1°になる。

【0062】

図2において説明すると、励起ダイクロイックミラー17aを使用したときの波長560nmの光の可変スリット29上での結像位置はQ3となり、励起ダイクロイックミラー17bを使用したときの波長560nmの光の可変スリット29上での結像位置はQ4になる。従って、これら結像位置Q3とQ4とは、位置ずれ ΔP_{ab} を生じる。

【0063】

又、制御装置32は、各励起ダイクロイックミラー17a、17b又は17cの切り換えによって回折格子24の分散方向にずれるスペクトル列結像位置と可変スリット29との位置関係を補正する（補正手段）。

【0064】

この制御装置32は、各励起ダイクロイックミラー17a、17b、17c毎に対するスペクトル列結像位置の各ずれに対応する複数の補正量を予め記憶するメモリ33を有する。なお、これら補正量は、メモリ33内に各励起ダイクロイックミラー17a、17b、17c毎にテーブル化（可変スリット制御テーブル）されて記憶されている。

【0065】

従って、制御装置32は、3つの励起ダイクロイックミラー17a、17b又は17cの切換動作時に、この切り換えに連動して当該切り換える励起ダイクロイックミラー17a、17b又は17cに対する補正量をメモリ33内の可変スリット制御テーブルから読み出し、この補正量の補正信号を可変スリットユニット27に送出し、これによって可変スリットユニット27の可変スリット29をスペクトル列方向に移動して可変スリット29の位置をスペクトル列結像位置に對して補正する。

【0066】

次に、上記の如く構成された装置の動作について説明する。

【0067】

アルゴンレーザ10は、中心波長488nmと514.5nmとのレーザビームを出力する。これと共にヘリウムネオンレーザ11は、中心波長543nmのレーザビームを出力する。このうちアルゴンレーザ10から出力されたレーザビームは、合成ダイクロイックミラー13に入射し、これと共にヘリウムネオンレーザ11から出力されたレーザビームは、ミラー12で反射し、合成ダイクロイックミラー13に入射する。

【0068】

この合成ダイクロイックミラー13は、アルゴンレーザ10から出力されたレーザビームとヘリウムネオンレーザ11から出力されたレーザビームとを1つの光路上に合成する。

【0069】

この合成ダイクロイックミラー13により合成され出力されたレーザビーム光は、AOTF14により波長488nm、514.5nm又は543nmのうち少なくとも1波長、例えば波長488nmのレーザビームを選択し、かつこのレーザビームを強度強調する。このAOTF14により選択された波長488nmのレーザビームは、ビームエキスパンダ15により適切なビーム径に拡大されてビームスプリッターレット16に入射する。

【0070】

ここで、ビームスプリッターレット16は、3つの励起ダイクロイックミラー17a～17cのうち例えば波長488nmのレーザ波長を励起光として用いて試料9からの蛍光を観察するときに用いる励起ダイクロイックミラー17aを光路上に設けている。

【0071】

この励起ダイクロイックミラー17aに入射した波長488nmのレーザビームは、当該励起ダイクロイックミラー17aで反射し、ガルバノミラースキャナ19に入射する。レーザビームは、ガルバノミラースキャナ19によりX方向と

Y方向とにそれぞれ偏向され、試料9上に2次元に走査される。

【0072】

レーザビームの照射により試料9に染色された蛍光試薬が励起されると、試料9から例えば波長500nm～600nmの蛍光が発せられる。この蛍光は、ガルバノミラースキナ19から励起ダイクロイックミラー17aを透過して反射ミラー20に入射し、この反射ミラー20で反射して共焦点レンズ21に入射する。さらに、蛍光は、共焦点レンズ21で集光され、共焦点ピンホール22を通過し、コリメートレンズ23により平行光に変換されて回折格子24に入射する。

【0073】

この回折格子24は、入射する平行光の蛍光を波長分散し、例えば波長500nmの蛍光を反射光線25aの方向に反射し、波長600nmの蛍光を反射光線25bの方向に反射する。

【0074】

これら波長500nmの蛍光と波長600nmの蛍光とは、集光レンズ26により集光され、波長500nmの蛍光と波長600nmの蛍光との各スペクトル列が形成される。

【0075】

例えば波長500nmの蛍光波長領域を取得する場合、可変スリット29は、電動ステージ31によるスリット幅可変部30のスペクトル列方向と同一方向（矢印S方向）への移動によってスリット中心位置を図2に示すように座標Q1に配置する。又、中心波長600nmの蛍光波長領域を取得する場合、可変スリット29は、スリット中心位置を座標Q2に配置する。

【0076】

このように取得する蛍光波長領域毎に可変スリット29のスリット中心位置は設定される。図2を参照して具体的に説明すると、回折格子24に入射する光の角度を回折格子24の入射面の法線a10に対して α （例えば10°）とし、回折格子24で反射する波長 λ の光の角度を法線a10に対して β （ λ ）とし、回折格子24の縞の本数をN、取り出す回折光の次数をmとすると、次の関係式が

成り立つ。

【0077】

$$\sin \alpha + \sin (-\beta) = N \cdot m \cdot \lambda \quad \cdots (2)$$

ここで、 $m = -1$ 、 $N = 600$ 本/mmとすると、

$$\beta(\lambda) = \sin^{-1}(\sin \alpha + 0.6 \lambda) \quad \cdots (3)$$

になる。

【0078】

波長 500 nm のときに反射光線 25a は、集光レンズ 26 の光軸上にある。このとき可変スリット 29 上における反射光線 25a の結像位置を例えば 0 μm とする。

【0079】

集光レンズ 26 の焦点距離を例えば 40 mm とすると、各波長毎の結像位置 $P(\lambda)$ は、次式により求められる。

【0080】

$$P(\lambda) = 40 \tan(\beta(\lambda) - \beta(500 \text{ nm})) \quad \cdots (4)$$

上記したように制御装置 32 の切り換え制御により、例えば励起ダイクロイックミラー 17a を 17b に切り換えると、これら励起ダイクロイックミラー 17a と 17b との間の角度差により、これら励起ダイクロイックミラー 17a と 17b との反射面の各角度がずれる。

【0081】

励起ダイクロイックミラー 17a を使用したときの波長 560 nm の光の可変スリット 29 上での結像位置は Q_3 であったのが、励起ダイクロイックミラー 17b を使用したときの波長 560 nm の光の可変スリット 29 上での結像位置は Q_4 なり、これら結像位置 Q_3 と Q_4 とは、位置ずれ ΔP_{ab} を生じる。

【0082】

図 3 は式 (4) に横軸に波長 λ (単位 nm)、縦軸に集光位置 P (単位 μm) を代入し、各波長毎の可変スリット 29 上における結像位置 $P(\lambda)$ を求めた結果を示す。同図において系列 H_1 は励起ダイクロイックミラー 17a を使用したときの結像位置 $P(\lambda)$ 、系列 H_2 は励起ダイクロイックミラー 17b を使用し

たときの結像位置 $P(\lambda)$ 、系列 H_3 は励起ダイクロイックミラー $17c$ を使用したときの結像位置 $P(\lambda)$ を示す。

【0083】

制御装置 32 のメモリ 33 は、例えば図 3 に示すような 3 つの励起ダイクロイックミラー $17a \sim 17c$ の波長 λ に対する結像位置 $P(\lambda)$ の各関係を記憶する。

【0084】

従って、制御装置 32 は、 3 つの励起ダイクロイックミラー $17a \sim 17c$ のうち使用する 1 つの励起ダイクロイックミラー $17a$ 、 $17b$ 又は $17c$ の波長 λ に対する結像位置 $P(\lambda)$ をメモリ 33 から読み出し、この結像位置 $P(\lambda)$ に従って可変スリット 29 のスリット中心位置とを合わせる駆動信号を可変スリットユニット 27 に送出する。

【0085】

又、制御装置 32 は、スペクトル列中から取り出す波長に応じて、当該波長の最小値と最大値との各結像位置にスリットの両端を移動調整する。

【0086】

これにより、蛍光のスペクトル列から必要な波長領域が可変スリット 29 を通過し、光検出器 28 に入射する。この光検出器 28 は、入射した波長領域の光強度に応じた検出信号を出力する。

【0087】

次に、励起ダイクロイックミラー $17a$ を $17b$ に切り換えたときの動作について説明する。

【0088】

励起ダイクロイックミラー $17b$ は、波長 514.5 nm のレーザ波長を励起光として用いて試料 9 からの蛍光を観察するときに用いる。AO_{TF} 14 は、波長 514.5 nm のレーザビームを選択し、かつこのレーザビームを強度変調する。

【0089】

ビームスプリッタターレット 16 を回転させて励起ダイクロイックミラー 17

aを17bに切り換えると、これら励起ダイクロイックミラー17aと17bとの間の角度差により、これら励起ダイクロイックミラー17aと17bとの反射面の各角度がずれる。

【0090】

例えば、励起ダイクロイックミラー17aから17bに切り換えたときに回折格子24での分散方向に、例えば角度1.5'ずれると、励起ダイクロイックミラー17bを透過する光の角度は、励起ダイクロイックミラー17aを光が透過するときに比べて2倍の3'ずれる。

【0091】

又、共焦点レンズ21の焦点距離を160mmと、コリメートレンズ23の焦点距離を80mmにすると、励起ダイクロイックミラー17aを使用していたときと比べてコリメートレンズ23の出射角度差は、2倍の6'（0.1°）になる。

【0092】

この結果、回折格子24に入射する光の角度 α は、10.1°になる。

【0093】

励起ダイクロイックミラー17bに切り換えた場合の結像位置P(λ)は、上記式(3)における回折格子24に入射する光の角度 α に角度10.1°を代入することにより求められる。

【0094】

励起ダイクロイックミラー17bを使用したときの各波長とスペクトル列結像位置との関係は、図3に示す系列H₂のようになる。同図から分るように可変スリット29上において同一波長例えば波長560nmの光の結像位置は、各励起ダイクロイックミラー17aと17bとの間で ΔP_{ab} (μ m)異なる。

【0095】

図2において説明すると、励起ダイクロイックミラー17aを使用したときの波長560nmの光の可変スリット29上での結像位置はQ₃となり、励起ダイクロイックミラー17bを使用したときの波長560nmの光の可変スリット29上での結像位置はQ₄なる。従って、これら結像位置Q₃とQ₄とは、位置ず

れ△Pabを生じる。

【0096】

この結果、励起ダイクロイックミラー17aから17bに切り換えた場合、中心波長560nmの蛍光を光検出器28に導くには、可変スリット29の中心位置を電動ステージ31の駆動により位置ずれ△Pabだけスペクトル列と同一方向（矢印S方向）に補正する。

【0097】

次に、励起ダイクロイックミラー17aを17cに切り換えたときの動作について説明する。

【0098】

励起ダイクロイックミラー17cは、波長543nmのレーザ波長を励起光として用いて試料9からの蛍光を観察するときに用いる。AOTF14は、波長543nmのレーザビームを選択し、かつこのレーザビームを強度変調する。

【0099】

励起ダイクロイックミラー17aを17cに切り換えると、これら励起ダイクロイックミラー17aと17bとの間の角度差により、これら励起ダイクロイックミラー17aと17bとの反射面の各角度がずれる。

【0100】

例えば、励起ダイクロイックミラー17aから17cに切り換えたときに回折格子24での光線の分散方向が例えば角度3'ずれると、励起ダイクロイックミラー17cを透過する光の角度は、励起ダイクロイックミラー17aを光が透過するに比べて2倍の6'ずれる。

【0101】

又、上記同様に共焦点レンズ21の焦点距離を160mmとし、コリメートレンズ23の焦点距離を80mmにすると、励起ダイクロイックミラー17aを使用していたときと比べてコリメートレンズ23の出射角度差は、2倍の12'（0.2°）になる。この結果、回折格子24に入射する光の角度 α は、10.2°になる。

【0102】

励起ダイクロイックミラー 17c に切り換えた場合の結像位置 $P(\lambda)$ は、上記式 (3) における角度 α に 10.2° を代入することにより求められる。

【0103】

励起ダイクロイックミラー 17c を使用したときの各波長とスペクトル列結像位置との関係は、図 3 に示す系列 H₃ のようになる。同図から分るように可変スリット 29 上において同一波長例えは波長 560 nm の光の結像位置は、各励起ダイクロイックミラー 17a と 17c との間で $\Delta P_{a,c}$ (μm) 異なる。

【0104】

この結果、励起ダイクロイックミラー 17a から 17c に切り換えた場合、中心波長 560 nm の蛍光を光検出器 28 に導くには、可変スリット 29 の中心位置を電動ステージ 31 の駆動により位置ずれ $\Delta P_{a,c}$ だけスペクトル列と同一方向 (矢印 S 方向) に補正する。

【0105】

制御装置 32 のメモリ 33 は、各励起ダイクロイックミラー 17a、17b、17c の相互間で切り換えたときの各波長に対する可変スリット 29 の各位置ずれ $\Delta P_{a,b}$ 、 $\Delta P_{a,c}$ 、 $\Delta P_{b,c}$ (各励起ダイクロイックミラー 17b と 17c との間で切り換えたときの位置ずれ) を各補正量として可変スリット制御テーブル化して記憶する。

【0106】

制御装置 32 は、ビームスプリッターレット 16 のモータ 18 を回転制御して各励起ダイクロイックミラー 17a、17b、17c の相互間で切り換えたとき、この切り換えに連動して可変スリット制御テーブルから該当する補正量 $\Delta P_{a,b}$ 、 $\Delta P_{a,c}$ 又は $\Delta P_{b,c}$ を読み出し、この補正量 $\Delta P_{a,b}$ 、 $\Delta P_{a,c}$ 又は $\Delta P_{b,c}$ に従った補正信号を可変スリットユニット 27 に送出する。

【0107】

これにより、可変スリット 29 は、スペクトル列方向 (矢印 S 方向) に移動し、可変スリット 29 の位置をスペクトル列結像位置に対して自動的に補正する。例えば、励起ダイクロイックミラー 17a から 17b に切り換えた場合、上記如く可変スリット 29 は、補正量 $\Delta P_{a,b}$ だけスペクトル列と同一方向に自動的に

補正される。この結果、励起ダイクロイックミラー 17a から 17b に切り換えると、波長 560 nm の蛍光が光検出器 28 に正確に導かれる。

【0108】

蛍光の分光データは、試料 9 から発せられる蛍光をスペクトル分解し、このスペクトル列から取得する。この場合、可変スリット 29 のスリット幅を狭く設定し、必要な波長領域の蛍光のみを通過させる必要がある。このスリット幅に設定された可変スリット 29 は、結像されているスペクトル列の全領域幅に対して当該スペクトル列方向と同一方向に移動する。これと共に光検出器 28 は、可変スリット 29 を通過する光強度を検出する。

【0109】

このとき、各励起ダイクロイックミラー 17a、17b、17c の相互間で切り換えたとき、これら励起ダイクロイックミラー 17a、17b、17c に対応する補正量 ΔP_{ab} 、 ΔP_{ac} 又は ΔP_{bc} に従って可変スリット 29 をスペクトル列方向に移動し、可変スリット 29 の位置をスペクトル列結像位置に対して自動的に補正する。

【0110】

これにより、励起ダイクロイックミラー 17a、17b 又は 17c に切り換えたとき、これら励起ダイクロイックミラー 17a、17b、17c 間に角度差がある場合、回折格子 24 に入射する光の光軸角度が変化してスペクトル列結像位置がスペクトル列方向に位置ずれても、この位置ずれの影響を受けずに正確に波長領域毎の測定ができる。この結果、スペクトル列方向の光強度の変化を示す分光データを検出できる。

【0111】

このように上記第 1 の実施の形態においては、メモリ 33 に各励起ダイクロイックミラー 17a、17b、17c の相互間で切り換えたときの可変スリット 29 の各位置ずれ ΔP_{ab} 、 ΔP_{ac} 、 ΔP_{bc} を各補正量として可変スリット制御テーブル化して記憶し、各励起ダイクロイックミラー 17a、17b、17c の相互間で切り換えたとき、可変スリット制御テーブルから該当する補正量 ΔP_{ab} 、 ΔP_{ac} 又は ΔP_{bc} を読み出し、この補正量 ΔP_{ab} 、 ΔP_{ac} 又は ΔP_{bc}

c に従って可変スリット 29 をスペクトル列方向に移動し、可変スリット 29 の位置をスペクトル列結像位置に対して自動的に補正する。

【0112】

これにより、励起ダイクロイックミラー 17a、17b 又は 17c に切り換えたとき、これら励起ダイクロイックミラー 17a、17b、17c 間に角度差があると、回折格子 24 に入射する光の光軸角度が変化してスペクトル列結像位置がスペクトル列方向に位置ずれても、この位置ずれの影響を受けずに正確に波長領域毎の測定ができる。

【0113】

分光データを取得するときは、可変スリット 5 のスリット幅を狭く設定して取り出す波長領域の幅を小さくしているために、僅かなスペクトル列結像位置のずれでも分光データの取得に影響を与える。このような分光データを取得する場合でも、可変スリット 29 の位置をスペクトル列結像位置に対して自動的に補正することにより、スペクトル列から取り出そうとする波長領域と実際に取り出される波長領域とが異ならず、精度高い分光データの測定ができる。

【0114】

なお、上記第 1 の実施の形態においては、光検出器 28 で検出する波長領域を取り出す手段としては、可変スリット 29 に限らず、例えば特開 2000-56244 号公報に記載されているようにスペクトル列結像位置に配置した DMD からの複数の反射光路のうち 1 つの反射光路上に光検出器を配置し、DMD の各微小ミラーの配置方向を制御する。これにより、光検出器 28 で検出する波長領域が制御できる。

【0115】

この場合、励起ダイクロイックミラー 17a、17b 又は 17c に切り換えたとき、各波長に対応する DMD の各微小ミラーのアドレスをスペクトル列の結像位置に合わせて変更する。

【0116】

又、光検出器 28 で検出する波長領域を取り出す手段は、例えば特表 2002-502044 号公報に記載されているようにスリットとミラーとにより波長領

域毎に各光路を分割するようにしてもよい。この場合、スリットとミラーとの各座標は、上記第1の実施の形態と同様に、各励起ダイクロイックミラー17a、17b、17c毎にオフセットする。

【0117】

スペクトル列を成形しかつ結像する各光学素子としては、回折格子24と集光レンズ26とに限らず、例えば特開2000-56244号公報に記載されているようにプリズムと集光レンズとを組み合わせ、又は平面回折格子と凹面ミラーとを組み合わせ、凹面回折格子を用いたものでもよい。

【0118】

次に、本発明の第2の実施の形態について図面を参照して説明する。

【0119】

図4は走査型レーザ顕微鏡における特徴部分を示す構成図であって、他の部分は図1に示す構成図と同一である。この走査型レーザ顕微鏡は、上記第1の実施の形態における可変スリットユニット27及び光検出器28に代ってラインセンサ（光検出器）40が設けられている。このラインセンサ40は、複数の受光ピクセル（検出部）41をアレイ状に配列してなる。このラインセンサ40は、スペクトル列結像位置に配置され、かつ各受光ピクセル41の配列方向をスペクトル列方向と一致する方向に設けられる。

【0120】

各受光ピクセル41は、それぞれスペクトル列の波長領域に対応している。従って、各受光ピクセル41のうち光の受光を有効にする受光ピクセル41と無効にする受光ピクセル41とを選択することで、必要な波長領域が取り出し可能である。

【0121】

ラインセンサ読み出し部42は、ラインセンサ40における光の受光を有効にする受光ピクセル41と無効にする受光ピクセル41とを選択して各受光ピクセル41の光検出値を読み出す。

【0122】

このラインセンサ読み出し部42は、各励起ダイクロイックミラー17a、1

7 b、17 c毎に対するスペクトル列結像位置の各位置ずれに対応する複数の補正量を予め記憶し、励起ダイクロイックミラー17 a、17 b又は17 cの切換動作時に、切り換える励起ダイクロイックミラー17 a、17 b又は17 cに対する補正量を読み出し、この補正量に従って受光を有効にする受光ピクセル41と無効にする受光ピクセル41との各ピクセル位置を補正する。

【0123】

なお、ラインセンサ読み出し部42は、制御装置32内に設けてもよい。これにより、制御装置32は、ラインセンサ40に対して直接光の受光を有効にする受光ピクセル41と無効にする受光ピクセル41とを補正する。

【0124】

次に、上記の如く構成された装置の動作について説明する。

【0125】

励起ダイクロイックミラー17 a、17 b又は17 cに切り換えたとき、これら励起ダイクロイックミラー17 a、17 b、17 c間の角度差によってラインセンサ40上におけるスペクトル列結像位置がずれる。

【0126】

例えば、励起ダイクロイックミラー17 aが光路上に設けられているときに中心波長560 nmの蛍光の結像位置はS1であり、励起ダイクロイックミラー17 bが光路上に設けられているときに中心波長560 nmの蛍光の結像位置はS2である。

【0127】

このとき、励起ダイクロイックミラー17 aが光路上に設けられているときの波長560 nmの蛍光を検出する受光ピクセル41の位置はP1であり、励起ダイクロイックミラー17 bが光路上に設けられているときの中心波長560 nmの蛍光を検出する受光ピクセル41の位置はP2である。

【0128】

制御装置32のメモリ33は、励起ダイクロイックミラー17 aから17 bに切り換えたときの各受光ピクセル41の各位置P1、P2の位置ずれをピクセル補正量として記憶する。なお、メモリ33に各励起ダイクロイックミラー17 a

、17b、17cの相互間で切り換えたきの各ピクセル補正量を記憶することは言うまでもない。

【0129】

制御装置32は、各励起ダイクロイックミラー17a、17b、17cの相互間で切り換えたき、この切り換えに連動してメモリ33からピクセル補正量を読み出し、この補正量に従ったピクセル読み出し位置補正信号をラインセンサ読み出し部42に送出する。

【0130】

このラインセンサ読み出し部42は、補正量に従ってラインセンサ40における蛍光の受光を有効にする受光ピクセル41と無効にする受光ピクセル41とを選択し、受光を有効にした受光ピクセル41から光検出値を読み出す。

【0131】

例えば励起ダイクロイックミラー17aから17bに切り換えられたとき、ラインセンサ読み出し部42は、波長560nmの蛍光の受光を有効にする受光ピクセル41の位置をP₁からP₂に補正する。

【0132】

このように上記第2の実施の形態においては、各励起ダイクロイックミラー17a、17b、17cの相互間で切り換えたきのスペクトル列結像位置の各位置ずれに対応するピクセル補正量に従ってラインセンサ40上の蛍光の受光を有効にする受光ピクセル41と無効にする受光ピクセル41とを補正する。

【0133】

これにより上記第1の実施の形態と同様に、正確に波長領域毎の測定ができ、かつ精度高い分光データの測定ができる。

【0134】

なお、上記第2の実施の形態では、ラインセンサ40を用いているが、これに限らず、CCD、マルチャンネルホトマルチプライヤなどを用いてもよい。

【0135】

次に、本発明の第3の実施の形態について図面を参照して説明する。なお、図1と同一部分には同一符号を付してその詳しい説明は省略する。

【0136】

図5は走査型レーザ顕微鏡を示す構成図である。コリメートレンズ23を通過した光の光路上に分光ビームスプリッタターレット50が設けられている。

【0137】

この分光ビームスプリッタターレット50は、円板状に形成され、同一円周上に複数の取付孔、例えば3つの取付孔が等間隔に設けられている。

【0138】

これら取付孔のうち2つの取付孔には、それぞれ分光ダイクロイックミラー（第2のビームスプリッタ）51と、全ての光を反射する反射ミラー52とが取り付けられている。なお、ビームスプリッタターレット16に取り付けられている各励起ダイクロイックミラー17a～17cは、それぞれ第1のビームスプリッタとする。

【0139】

分光ダイクロイックミラー51は、各波長毎に反射光と透過光とにそれぞれ2分割する。この分光ダイクロイックミラー51は、例えば中心波長550nmよりも短い中心波長の蛍光を反射し、中心波長550nmよりも長い波長の蛍光を透過する。

【0140】

残りの取付孔は、空孔においており、全ての光を通過させる。なお、反射ミラー52は反射率と透過率との比をほぼ100%対0%、空孔は反射率と透過率との比を0%対100%のビームスプリッタとして扱う。

【0141】

分光ビームスプリッタターレット50は、コリメートレンズ23を通過した蛍光の光軸に対して約45°傾斜して設けられている。この分光ビームスプリッタターレット50の中心にモータ53の回転軸が設けられている。従って、分光ビームスプリッタターレット50は、モータ53の回転動作によって回転軸53aを中心に回転し、分光ダイクロイックミラー51、反射ミラー52又は空孔を光路上に切り換える。

【0142】

分光ダイクロイックミラー 5 1 及び反射ミラー 5 2 の反射光路 R 上に回折格子 5 4 が設けられている。この回折格子 5 4 は、ガルバノ 5 5 の動作によって矢印 G 1 方向に回転可能である。

【0143】

回折格子 5 4 による蛍光の分散方向には、集光レンズ 5 6 、幅可変スリット 5 7 を介して光検出器 5 8 が設けられている。幅可変スリット 5 7 は、集光レンズ 5 6 によるスペクトル列結像位置に設けられている。この幅可変スリット 5 7 は、例えば図示しない電動駆動機構によりスリット幅のみを可変可能とする。

【0144】

一方、分光ダイクロイックミラー 5 1 を透過し、かつ空孔内を通過する光の光路（以下、透過光路と称する） T 上に反射ミラー 5 9 が設けられている。この反射ミラー 5 9 の反射光路 6 0 上に回折格子 6 1 が設けられている。この回折格子 6 1 は、ガルバノ 6 2 の動作によって矢印 G 2 方向に回転可能である。

【0145】

この回折格子 6 1 による蛍光の分散方向に集光レンズ 6 3 、幅可変スリット 6 4 を介して光検出器 6 5 が設けられている。このうち幅可変スリット 6 4 は、集光レンズ 6 3 によるスペクトル列結像位置に設けられている。この幅可変スリット 6 4 は、例えば図示しない電動駆動機構によりスリット幅のみを可変可能とする。

【0146】

制御装置 3 2 は、ビームスプリッターレット 1 6 による各励起ダイクロイックミラー 1 7 a 、 1 7 b 又は 1 7 c の切り換えと、分光ビームスプリッターレット 5 0 による分光ダイクロイックミラー 5 1 、反射ミラー 5 2 又は空孔の切り換えを行い、これらの切り換え動作によって各回折格子 5 5 、 6 1 で反射した光の分散方向にずれる各スペクトル列結像位置と各幅可変スリット 5 7 、 6 4 との各位置関係を補正する（補正手段）。

【0147】

この制御装置 3 2 のメモリ 3 3 は、各励起ダイクロイックミラー 1 7 a 、 1 7 b 、 1 7 c と、分光ダイクロイックミラー 5 1 、反射ミラー 5 2 、空孔との各組

み合わせの切り換えにより生じるスペクトル列結像位置の各ずれに対応する複数の補正量を予め記憶する。

【0148】

すなわち、メモリ33は、分光ダイクロイックミラー51を光路上に設けた状態に、各励起ダイクロイックミラー17a、17b、17cを切り換えたときに各回折格子54、61により生じる各スペクトル列結像位置の各ずれに対応する各補正量と、反射ミラー52を光路上に設けた状態に各励起ダイクロイックミラー17a、17b、17cを切り換えたときに一方の回折格子54により生じるスペクトル列結像位置のずれに対応する補正量と、空孔を光路上に設けた状態に各励起ダイクロイックミラー17a、17b、17cを切り換えたときに他方の回折格子61により生じるスペクトル列結像位置のずれに対応する補正量とを記憶する。

【0149】

又、メモリ33は、励起ダイクロイックミラー17aを光路上に設けた状態に分光ダイクロイックミラー51、反射ミラー52又は空孔を切り換えたときに各回折格子54、61のうちいずれか一方又は両方により生じる各スペクトル列結像位置の各ずれに対応する各補正量と、励起ダイクロイックミラー17bを光路上に設けた状態に分光ダイクロイックミラー51、反射ミラー52又は空孔を切り換えたときに各回折格子54、61のうちいずれか一方又は両方により生じる各スペクトル列結像位置の各ずれに対応する各補正量と、励起ダイクロイックミラー17cを光路上に設けた状態に分光ダイクロイックミラー51、反射ミラー52又は空孔を切り換えたときに各回折格子54、61のうちいずれか一方又は両方により生じる各スペクトル列結像位置の各ずれに対応する各補正量とを記憶する。

【0150】

又、メモリ33は、各励起ダイクロイックミラー17a、17b、17cと、分光ダイクロイックミラー51、反射ミラー52、空孔とを同時に切り換えたときに各回折格子55、61のうちいずれか一方又は両方により生じる各スペクトル列結像位置の各ずれに対応する各補正量を記憶する。

【0151】

制御装置32は、各励起ダイクロイックミラー17a、17b、17cと、分光ダイクロイックミラー51、反射ミラー52、空孔との各組み合わせの切換動作時に、この切り換えに連動してこれら組み合わせに該当する補正量をメモリ33から読み出し、この補正量に従って各ガルバノ55、62のうちいずれか一方又は両方を回転駆動し、各幅可変スリット57、64上の各スペクトル列結像位置を補正する。

【0152】

次に、上記の如く構成された装置の動作について説明する。

【0153】

各励起ダイクロイックミラー17a、17b、17cと、分光ダイクロイックミラー51、反射ミラー52、空孔との各組み合わせにより切り換えたとき、すなわち、分光ダイクロイックミラー51を光路上に設けた状態に各励起ダイクロイックミラー17a、17b、17cを切り換えたとき、反射ミラー52を光路上に設けた状態に各励起ダイクロイックミラー17a、17b、17cを切り換えたとき、空孔を光路上に設けた状態に各励起ダイクロイックミラー17a、17b、17cを切り換えたとき、励起ダイクロイックミラー17aを光路上に設けた状態に分光ダイクロイックミラー51、反射ミラー52又は空孔を切り換えたとき、励起ダイクロイックミラー17bを光路上に設けた状態に分光ダイクロイックミラー51、反射ミラー52又は空孔を切り換えたとき、励起ダイクロイックミラー17cを光路上に設けた状態に分光ダイクロイックミラー51、反射ミラー52又は空孔を切り換えたときに、それぞれ各回折格子55、61のうちいずれか一方又は両方により生じる各スペクトル列結像位置に各ずれが生じる。

【0154】

又、各励起ダイクロイックミラー17a、17b、17cと、分光ダイクロイックミラー51、反射ミラー52、空孔とを同時に切り換えたときにも各回折格子55、61のうちいずれか一方又は両方により各スペクトル列結像位置に各ずれが生じる。

【0155】

制御装置32は、各励起ダイクロイックミラー17a、17b、17cと、分光ダイクロイックミラー51、反射ミラー52、空孔との各組み合わせの切換動作時に、この切り換えに連動してこれら組み合わせに該当する補正量をメモリ33から読み出し、この補正量に従って各ガルバノ55、62のうちいずれか一方又は両方を回転駆動する。

【0156】

これにより、各回折格子54、61のうちいずれか一方又は両方は回転する。この結果、各回折格子54、61により分散され、各集光レンズ56、63により集光される各スペクトル列結像位置は補正され、検出する波長領域の光のみが各幅可変スリット57、64をそれぞれ通過し、各光検出器58、65に入射する。

【0157】

蛍光の分光データは、試料9から発せられる蛍光をスペクトル分解し、このスペクトル列から取得する。この場合、各回折格子54、61をそれぞれ各ガルバノ55、62により回転させる。これにより、各スペクトル列結像位置は、当該スペクトル列の方向に移動する。

【0158】

一方、各幅可変スリット57、64は、スリット幅を狭く設定し、必要な波長領域の蛍光のみを通過させる必要がある。

【0159】

制御装置32は、各励起ダイクロイックミラー17a、17b、17cと、分光ダイクロイックミラー51、反射ミラー52、空孔との各組み合わせの切換動作時に、この切り換えに連動してこれら組み合わせに該当する補正量をメモリ33から読み出し、この補正量に従って各ガルバノ55、62のうちいずれか一方又は両方を回転駆動する。

【0160】

これにより、各回折格子54、61により分散され、各集光レンズ56、63により集光される各スペクトル列結像位置は補正され、検出する波長領域の光のみが各幅可変スリット57、64をそれぞれ通過し、各光検出器58、65に入

射する。

【0161】

この結果、各蛍光のスペクトル列方向の光強度の変化を示す分光データが検出される。

【0162】

このように上記第3の実施の形態においては、各励起ダイクロイックミラー17a、17b、17cと、分光ダイクロイックミラー51、反射ミラー52、空孔との各組み合わせの切換動作時に、これら組み合わせに該当する補正量に従つて各ガルバノ55、62のうちいずれか一方又は両方を回転駆動し、各幅可変スリット57、64上の各スペクトル列結像位置を補正する。

【0163】

これにより、各励起ダイクロイックミラー17a、17b、17cを切り換えたときに各幅可変スリット57、64上の各スペクトル列結像位置にそれぞれずれが生じたとしても、この位置ずれの影響を受けずに正確に波長領域毎の測定ができるだけでなく、分光ダイクロイックミラー51、反射ミラー52、空孔を切り換えたときに各幅可変スリット57、64上の各スペクトル列結像位置にそれぞれずれが生じたとしても、この位置ずれの影響も受けずに正確に波長領域毎の測定ができる。

【0164】

又、各励起ダイクロイックミラー17a、17b、17cと、分光ダイクロイックミラー51、反射ミラー52、空孔とを同時に切り換えたときに各幅可変スリット57、64上の各スペクトル列結像位置にそれぞれずれが生じたとしても、この位置ずれの影響を受けずに正確に波長領域毎の測定ができる。

【0165】

なお、前述のスペクトル列結像位置にずれが生じる要因は、ビームスプリッターレット16や分光ビームスプリッターレット50の切り換えにより生じる角度ずれに限定されるものでない。例えば、レーザビームのビーム径を変化させるビームエキスパンダ15を、いくつかのビーム径に変更できるように複数種類用意するか、又はアフォカルズーム方式にして、これらのビームエキスパンダの

切り換えや、ズーム切り換えにより、ビームスプリッターレット 16 に入射する光の角度が変化して、分散素子 54、61 に入射する光の角度が変化する場合が考えられる。又、共焦点レンズ 21 やコリメートレンズ 23 を異なる焦点距離のものに切り換えることにより、分散素子 54、61 に入射する光の角度が変化する場合が考えられる。つまり、分散素子 54、61 に入射する光の角度がずれる要因となる光学素子の切り換えが全て含まれる。

【0166】

又、各回折格子 54、61 は、それぞれ各ガルバノ 55、62 の駆動により回転する。これにより、各幅可変スリット 57、64 上にそれぞれ結像される各スペクトル列における各波長領域の光量を検出するのに検出器の S/N、検出時間を考慮した最適な速度で各スペクトル列を当該各スペクトル列方向に移動できる。この結果、短時間で正確に分光データを取得できる。

【0167】

さらに、各ガルバノ 55、62 の駆動による各回折格子 54、61 の回転とガルバノミラースキャナ 19 によるレーザビームの 2 次元走査との同期を取ることができます。例えば、各ガルバノ 55、62 によりレーザビームを試料 9 上に 1 走査（主走査）し、走査位置をずらして（副走査）再び主走査し、これら主走査と副走査とを繰り返して試料 9 の全面を走査する。これと共に、各回折格子 54、61 は、レーザビームの試料 9 上に対する主走査を終える毎に所定の角度だけ回転する。

【0168】

このように各ガルバノ 55、62 の駆動による各回折格子 54、61 の回転とガルバノミラースキャナ 19 によるレーザビームの 2 次元走査との同期を取ることにより、試料 9 上のレーザビームの照射位置とスペクトル列中から取り出す波長領域とを関連付けることができる。

【0169】

なお、上記第 3 の実施の形態において各回折格子 54、61 は、各ガルバノ 55、62 の駆動により回転しているが、これに限らず、モータを用いて回転させてもよい。

【0170】

なお、本発明は、上記第1乃至第3の実施の形態に限定されるものでなく、実施段階ではその要旨を逸脱しない範囲で種々に変形することが可能である。

【0171】

さらに、上記実施形態には、種々の段階の発明が含まれており、開示されている複数の構成要件における適宜な組み合わせにより種々の発明が抽出できる。例えば、実施形態に示されている全構成要件から幾つかの構成要件が削除されても、発明が解決しようとする課題の欄で述べた課題が解決でき、発明の効果の欄で述べられている効果が得られる場合には、この構成要件が削除された構成が発明として抽出できる。

【0172】

例えば、各励起ダイクロイックミラー17a、17b、17cの切り換えや分光ダイクロイックミラー51、反射ミラー52、空孔の切り換えは、それぞれスプリッタターレット16、51のような回転による切り換えに限らず、例えばスライドによる切り換え等、他の切り換え機構を用いてもよい。

【0173】

上記第1の実施の形態では、各励起ダイクロイックミラー17a、17b、17cの切り換え動作のときに可変スリット29の位置を補正しているが、例えばビームエキスパンダ15、共焦点レンズ21、コリメートレンズ23を交換したときに生じるスペクトル列結像位置のずれに対応する各補正量に従って可変スリット29の位置を補正してもよい。

【0174】

上記第2の実施の形態では、ラインセンサ40上の光の受光を有効にする受光ピクセル41と無効にする受光ピクセル41とを補正しているが、各励起ダイクロイックミラー17a、17b、17cの切り換えや、ビームエキスパンダ15、共焦点レンズ21、コリメートレンズ23を交換したときに生じるスペクトル列結像位置のずれに対応する各補正量に従ってラインセンサ40自体をスペクトル列方向に移動してもよい。

【0175】

上記第3の実施の形態では、1つの分光ダイクロイックミラー51を用いて各波長毎に反射光と透過光とにそれぞれ2分割しているが、これら反射光路R又は透過光路Tのうちいずれか一方又は両方に分光ダイクロイックミラーを追加して設け、分光ダイクロイックミラー51の反射光又は透過光のうちいずれか一方又は両方をさらに分割してもよい。この場合、追加した分光ダイクロイックミラーの切り換えによりスペクトル列結像位置のずれが生じるので、この位置ずれに対する補正量をメモリ33に記憶する。

【0176】

又、上記第3の実施の形態は、各回折格子54、61を回転させるのに限らず、各幅可変スリット57、64を上記第1の実施の形態における可変スリット29に代え、この可変スリット29をスペクトル列方向に移動させるようにしてもよい。又、各幅可変スリット57、64をそれぞれ上記第2の実施の形態におけるラインセンサ40に代え、これらラインセンサ40上の光の受光を有効にする受光ピクセル41と無効にする受光ピクセル41とを補正するようにしてもよい。

【0177】

試料9から発せられた蛍光が各回折格子55、61に入射するまでの光路上に設けられた各光学素子、例えば集光レンズ56、63、ガルバノミラースキナ19、反射ミラー20、共焦点レンズ21、コリメートレンズ23、反射ミラー59を交換したときに回折格子24に入射する光の光軸角度が変化し、スペクトル列結像位置がずれる可能性がある。メモリ33には、これら集光レンズ56、63、ガルバノミラースキナ19、反射ミラー20、共焦点レンズ21、コリメートレンズ23、反射ミラー59の交換により生じる各スペクトル列結像位置の各ずれに対応する各補正量を記憶してもよい。

【0178】

【発明の効果】

以上詳記したように本発明によれば、スペクトル列に分散する分散素子への入射光の入射角度が変化しても正確に波長領域毎の測定ができる走査型レーザ顕微鏡を提供できる。

【図面の簡単な説明】**【図 1】**

本発明に係わる走査型レーザ顕微鏡の第1の実施の形態を示す構成図。

【図 2】

本発明に係わる走査型レーザ顕微鏡の第1の実施の形態における可変スリットユニットの構成図。

【図 3】

本発明に係わる走査型レーザ顕微鏡の第1の実施の形態における各波長毎の可変スリット上における結像位置を示す図。

【図 4】

本発明に係わる走査型レーザ顕微鏡の第2の実施の形態における特徴部分を示す構成図。

【図 5】

本発明に係わる走査型レーザ顕微鏡の第3の実施の形態を示す構成図。

【図 6】

従来の走査型レーザ顕微鏡における光検知器上におけるスペクトル列結像位置のズレを説明するための図。

【符号の説明】

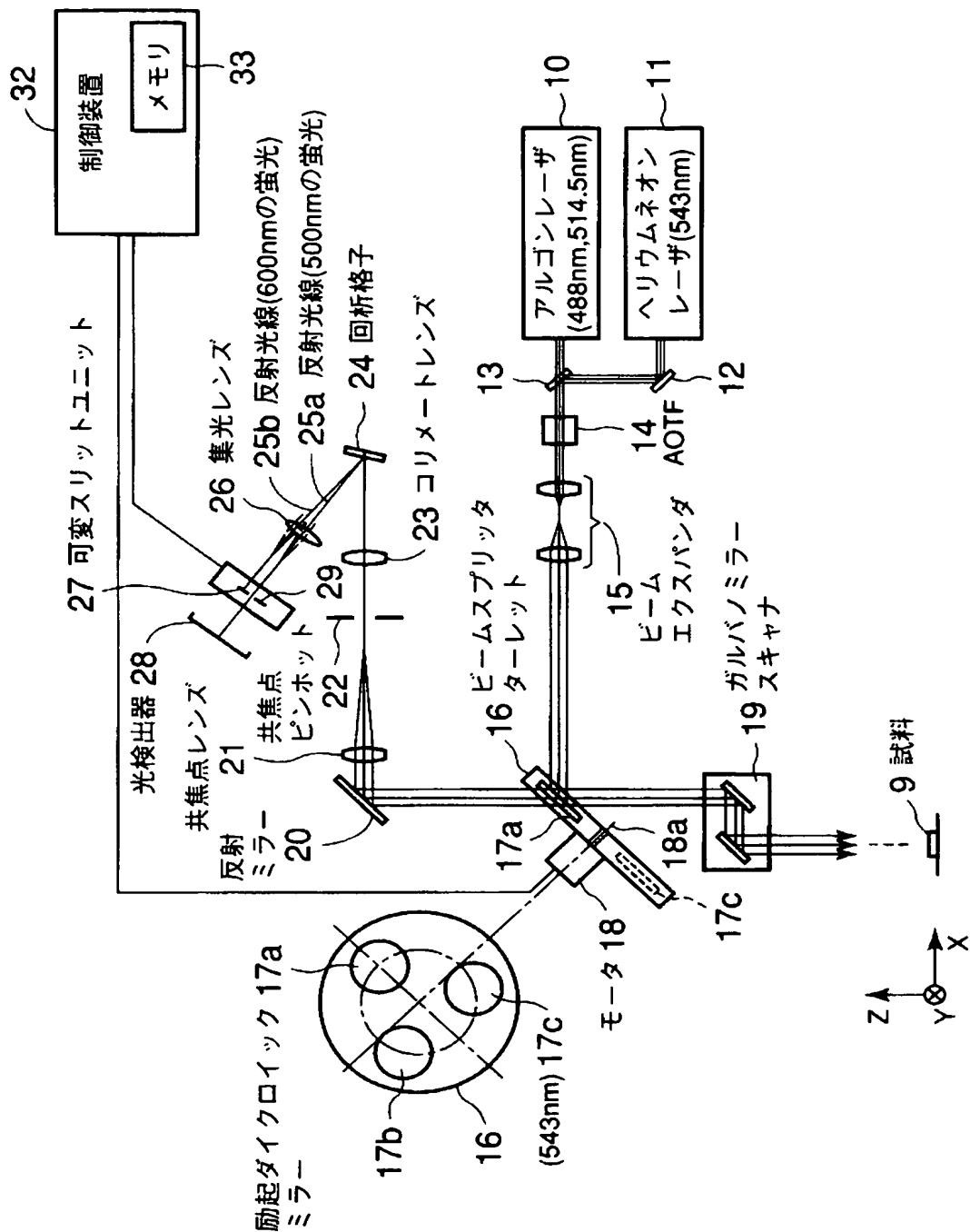
9：試料、10：アルゴンレーザ、11：ヘリウムネオンレーザ、12：ミラー、13：合成ダイクロイックミラー、14：音響光学チューナブルフィルタ（AOTF）、15：ビームエキスパンダ、16：ビームスプリッターベット、17a～17c：励起ダイクロイックミラー、18：モータ、18a：回転軸、19：ガルバノミラースキャナ、20：反射ミラー、21：共焦点レンズ、22：共焦点ピンホール、23：コリメートレンズ、24：回折格子（分散素子）、26：集光レンズ、27：可変スリットユニット、28：光検出器、29：可変スリット（波長領域取り出し手段）、30：スリット幅可変部、31：電動ステージ、32：制御装置、33：メモリ、40：ラインセンサ、41：受光ピクセル、42：ラインセンサ読み出し部、50：分光ビームスプリッターベット、51：分光ダイクロイックミラー（第2のビームスプリッタ）、52：反射ミラー

一、53：モータ、54、61：回折格子、55、62：ガルバノ、56、63
：集光レンズ、57、64：幅可変スリット、58、65：光検出器。

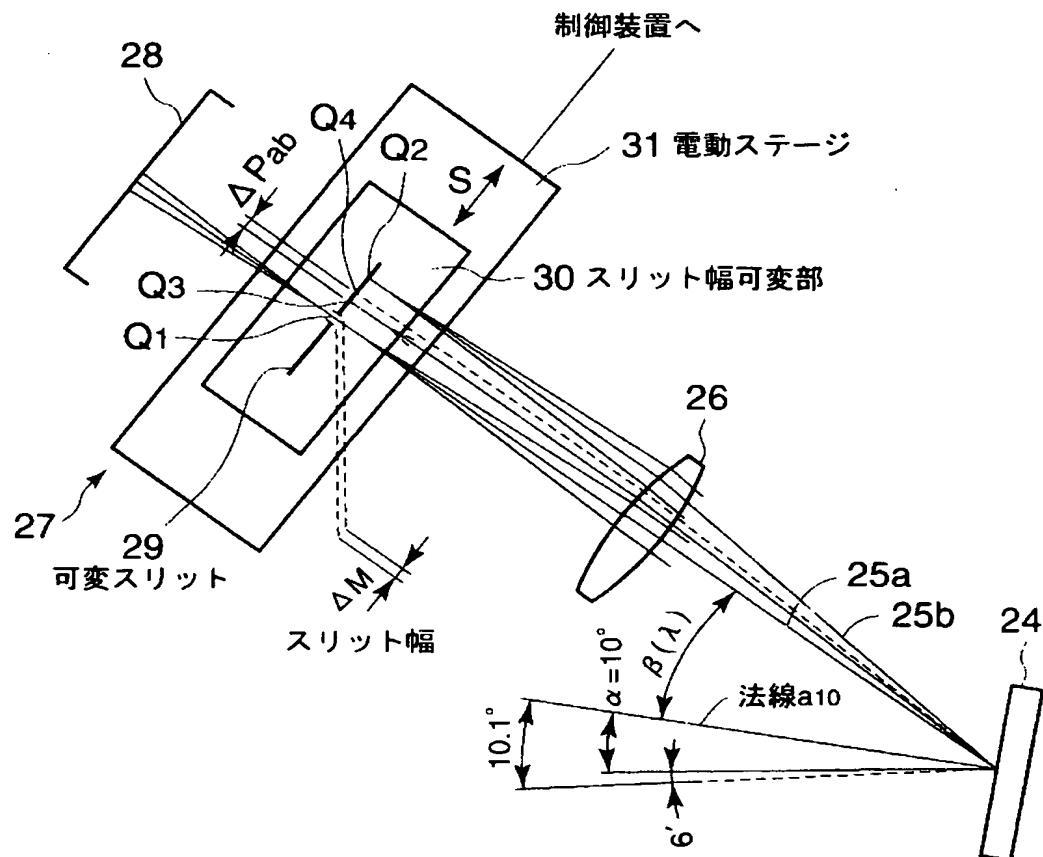
【書類名】

図面

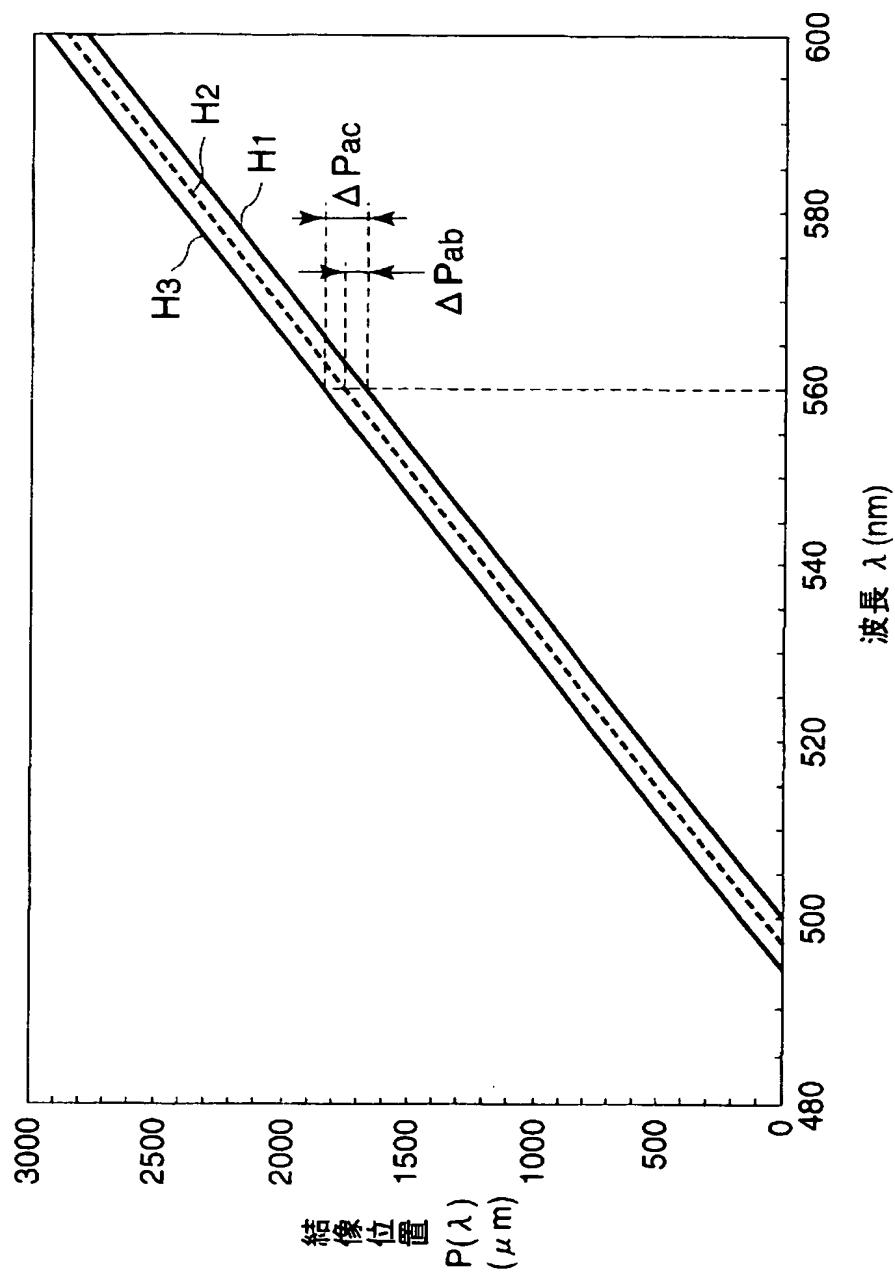
【図 1】



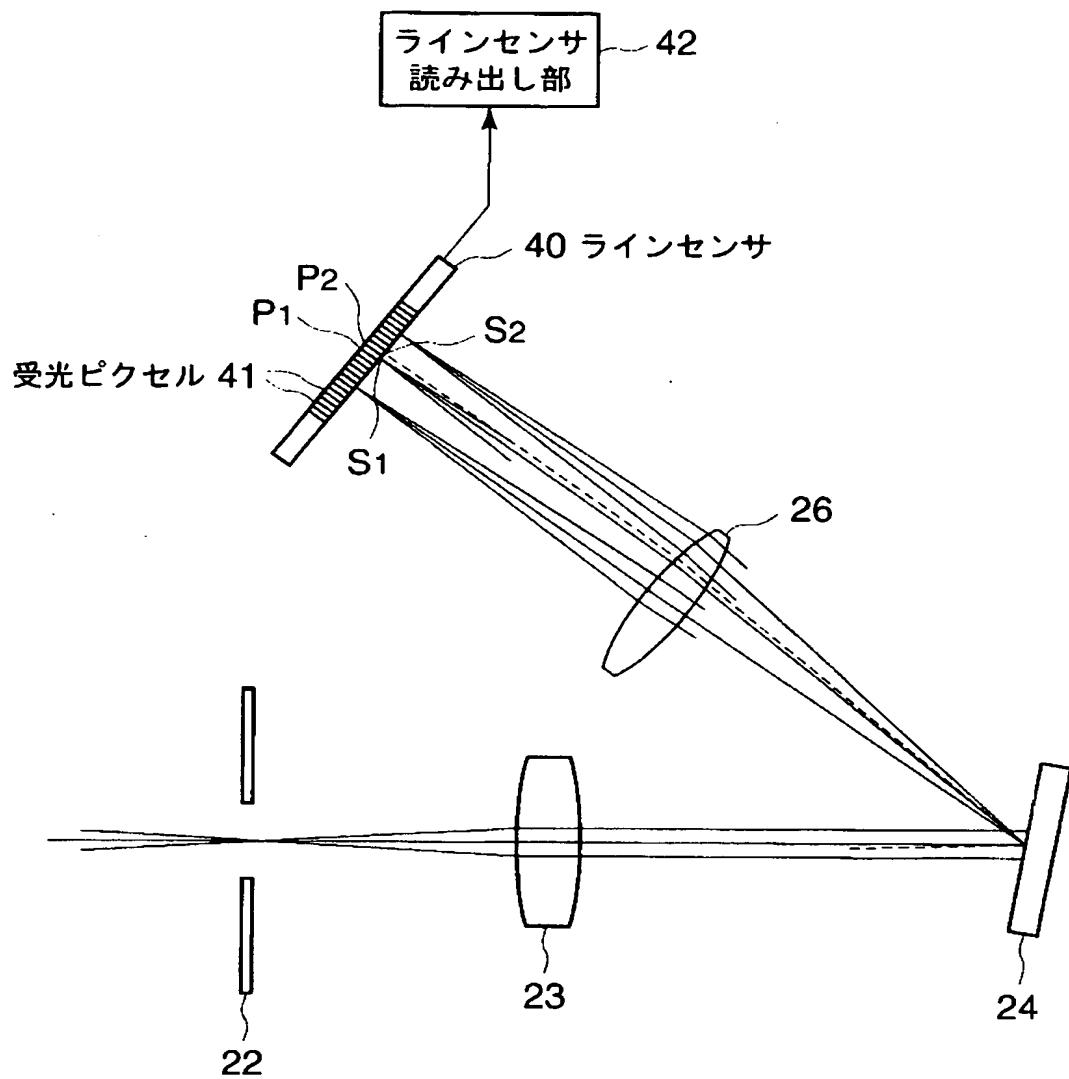
【図 2】



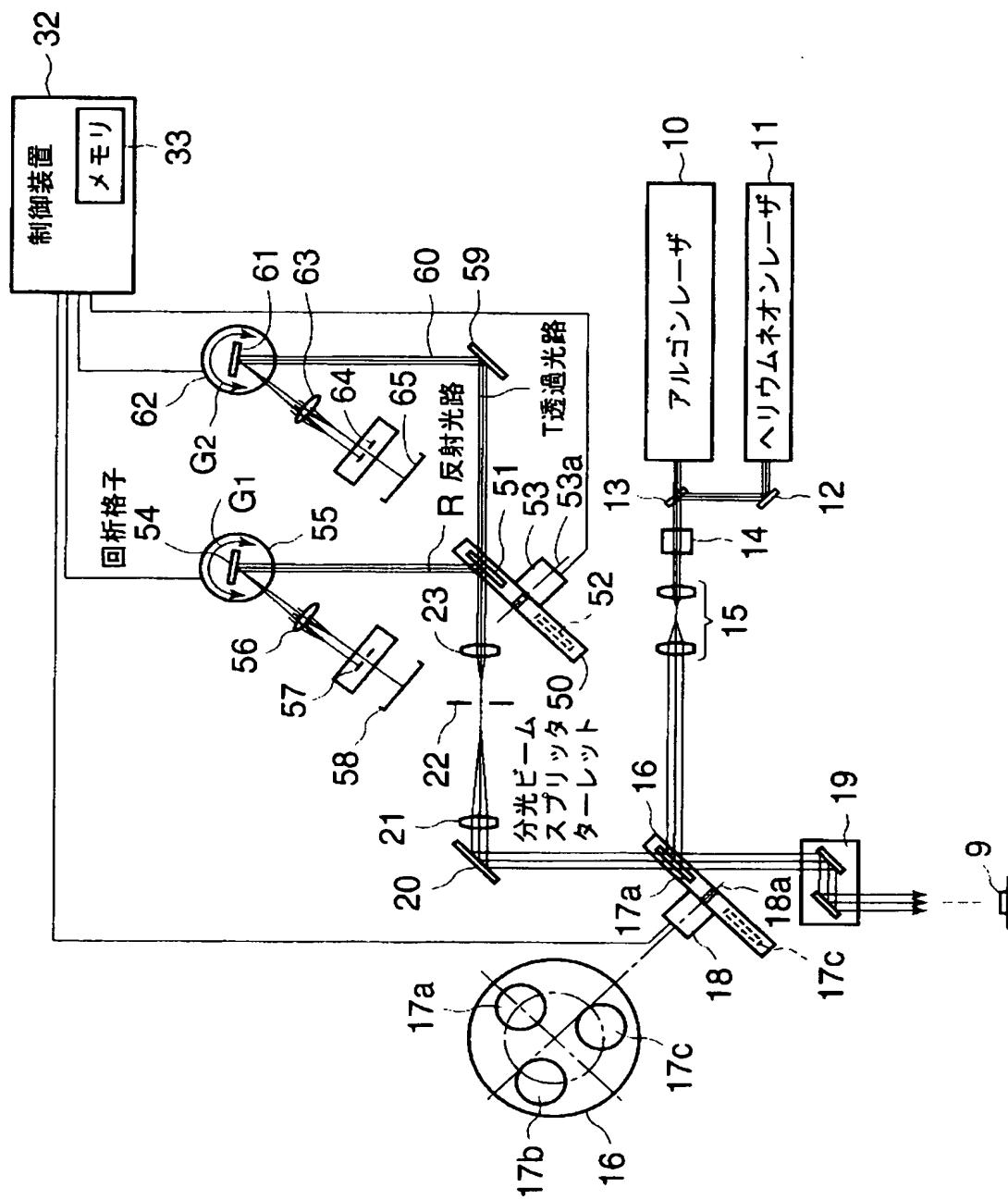
【図3】



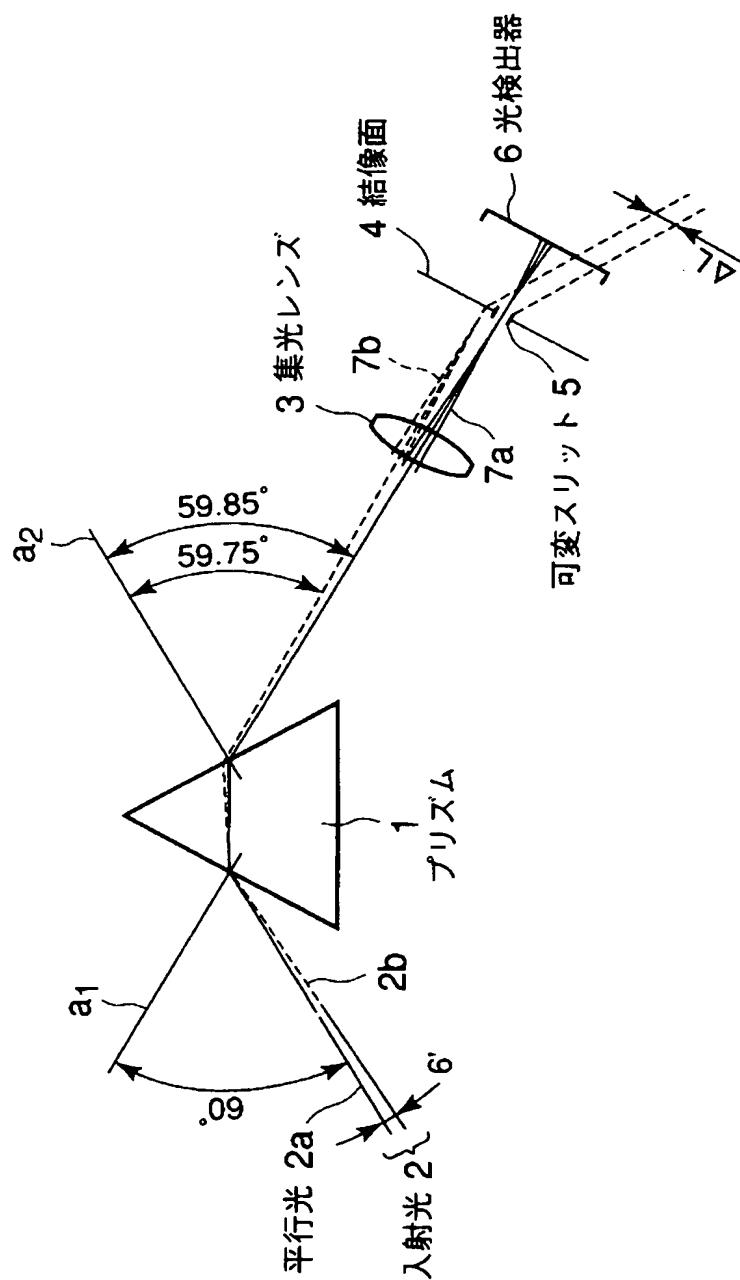
【図4】



【図 5】



【図 6】





【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 スペクトル列に分散する分散素子への入射光の入射角度が変化しても正確に波長領域毎の測定を行う。

【解決手段】 制御装置32のメモリ33に各励起ダイクロイックミラー17a、17b、17cの相互間で切り換えたきの可変スリット29の各位置ずれを各補正量として可変スリット制御テーブル化して記憶し、各励起ダイクロイックミラー17a、17b、17cの相互間で切り換えたき、可変スリット制御テーブルから該当する補正量を読み出し、この補正量に従って可変スリット29をスペクトル列方向に移動することによって可変スリット29の位置をスペクトル列結像位置に対して自動的に補正する。

【選択図】 図1



特願 2003-067983

出願人履歴情報

識別番号 [000000376]

1. 変更年月日 1990年 8月20日
[変更理由] 新規登録
住 所 東京都渋谷区幡ヶ谷2丁目43番2号
氏 名 オリンパス光学工業株式会社

2. 変更年月日 2003年10月 1日
[変更理由] 名称変更
住 所 東京都渋谷区幡ヶ谷2丁目43番2号
氏 名 オリンパス株式会社